

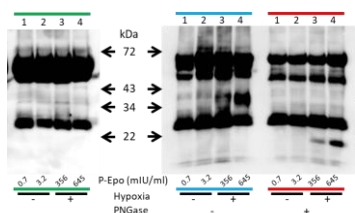
Keyword① Erythropoietin

Keyword② Hypoxia

エリスロポエチンを簡便に検出する新しい方法  
New Method to detect Erythropoietin

血中、尿中、組織中のエリスロポエチン、ESA製剤を検出する新しい方法です。糖蛋白である特徴を生かして、脱糖鎖と組み合わせたWestern blot法を用い、これまで必須とされてきた検体の精製操作なしで、検出の特異性・検出感度の上昇を図りました。

血中エリスロポエチンの検出

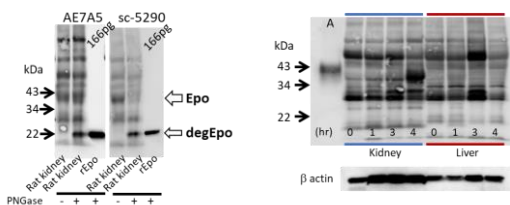


未処理血液サンプル(green line)  
エリスロポエチンは検出されない。

バッファー処理サンプル(blue line)  
低酸素暴露ratのサンプルにおいて、エリスロポエチン(34-43kDa)が検出されている。

脱糖鎖後のサンプル(red line)  
低酸素暴露ratのサンプルにおいて、エリスロポエチン(22kDa)が検出されている。

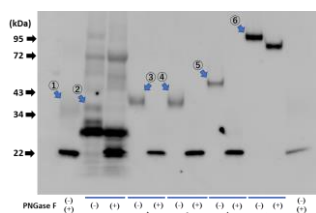
組織中のエリスロポエチンの検出



エリスロポエチン抗体“clone AE7A5”は、脱糖鎖後も34-43kDaのバンドが残るが、“clone sc-5290”ではこのバンドは消え、よりspecificityが高い。  
rEPO; recombinant rat EPO.

低酸素(7%)暴露によるエリスロポエチンの誘導。エリスロポエチンは、低酸素暴露4時間後の腎臓で増加する(34-43kDa)。A; rEPO.

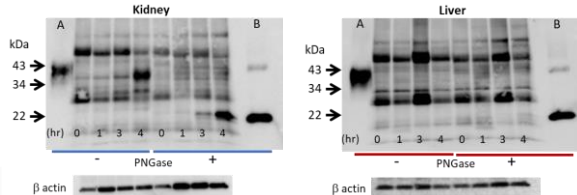
尿中のエリスロポエチンおよびESA製剤の検出



The sizes of Epos

	glycosylated	deglycosylated	LC/MS
rhEpo	34-43		
Endo hEpo	35-38		
Epoetin α	38-42	22	22
Epoetin β	38-42		
Darbepoetin α	47-50		
Epoetin β pegol	93-110	81-93	

WADAが推奨しているサンプルの精製やSAR-PAGEなどの特殊な方法を使わず、一般的なWestern blot法でエリスロポエチンやESA製剤を簡単に検出できる。血液はそのままではバンドは検出できず、脱糖鎖溶液でのインキュベーションが必要であるが、尿、組織はそのままの試料からでも検出できる。しかし、脱糖鎖後にそれぞれのバンドが22kDa(Epoetin β pegolは81-93kDa)ヘシフトすることで、エリスロポエチンであることの信頼性が高まる。



低酸素暴露後のエリスロポエチンの検出(腎臓、肝臓)。腎臓で脱糖鎖前に検出されていたエリスロポエチンのバンド(34-43kDa)は、脱糖鎖後に22kDaのバンドとしてクリアに検出された。肝臓ではエリスロポエチンは検出されなかった。A, B; rEPO.

Pros/セールスポイント

- ・生体試料中のエリスロポエチンやESA製剤をウエスタンブロットングにより簡便に検出する技術
- ・知的財産情報 (出願番号:特願2019-061592・公開番号:特開2020-159960) 権利者: 北里研究所

- Publications
- 1) Erythropoietin production by the kidney and the liver in response to severe hypoxia evaluated by Western blotting with deglycosylation. *Physiol Rep* 8(12):e4485, 2020.
  - 2) Differentiation of endogenous erythropoietin and exogenous ESAs by Western blotting. *Heliyon* 6(11):e05389, 2020.
  - 3) Progress in the Detection of Erythropoietin in Blood, Urine, and Tissue. *Molecules* 28(11):4446, 2023.

Purpose/今回の商談目的

- ・血中、尿中、組織中のエリスロポエチンを検出するキット作成を目指し、協業企業を募集しております。共同研究、受託研究など、柔軟に対応いたします。